

Potyvirus causando mosaico em plantas daninhas nas culturas do milho e do sorgo

Isabel Regina Prazeres de Souza⁽¹⁾; Nayara de Oliveira Mello⁽³⁾; Samanta Gabriela Medeiros Carvalho⁽⁴⁾; José Avelino Santos Rodrigues⁽¹⁾; Elizabeth de Oliveira Sabato⁽¹⁾; Isabella Aparecida Maia Gonçalves⁽⁴⁾; Beatriz de Almeida Barros⁽²⁾;

⁽¹⁾ Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Minas Gerais, isabel.prazeres@embrapa.br; ⁽²⁾ Analista da Embrapa Milho e Sorgo; ⁽³⁾ Estudante, Faculdade Ciências da Vida, Sete Lagoas, MG ⁽⁴⁾ Estudante, Centro Universitário de Sete Lagoas - UNIFEMM.

RESUMO: A virose mosaico-comum, causada pelo *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), afeta o milho e o sorgo ocasionando danos a essas culturas, quando da utilização de cultivares suscetíveis. Dada a importância dessas culturas, plantas daninhas poaceas de ocorrência frequente em lavouras de milho e de sorgo, apresentando sintomas típicos de mosaico, foram analisadas para a presença e identificação da espécie de potyvirus. *Primers* específicos para o gene da proteína capsidial dos seis potyvirus do complexo do mosaico, foram empregados em reações de RT-PCR e PCR. O par de *primers*, para identificação geral de potyvirus, amplificou um fragmento de 324 pb nas amostras das espécies de plantas daninhas: *Brachiaria plantaginea*, *Brachiaria brizantha*, *Euchlaena mexicana* e *Sorghum verticilliflorum*. O sequenciamento desse fragmento permitiu identificar a espécie de potyvirus *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) como sendo o agente causal do mosaico nessas espécies de poaceas.

Termos de indexação: *Zea mays* L., *Sorghum bicolor* (L.) Moench, *Sugarcane mosaic virus* (SCMV), mosaico-comum, proteína capsidial, PCR, RT-PCR

INTRODUÇÃO

No Brasil, a virose mosaico-comum em milho e em sorgo, tem como agente causal uma estirpe distinta de *Sugarcane mosaic virus* (SCMV) SOUZA et al., 2012; MELO, 2000; GONÇALVES et al., 2011). No mundo, além dessa espécie, mais cinco outras espécies de potyvirus pertencentes ao complexo do mosaico tem sido identificadas: *Sorghum mosaic*

virus (SrMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV), *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV) (SHUKLA et al., 1994), *Zea mosaic virus* (ZeaMV) (SHEIFERS et al., 2000) e *Pennisetum mosaic virus* (PenMV) (DENG et al., 2008). Como o mosaico é uma virose presente em diversas espécies de gramíneas, torna-se de grande importância a identificação do potyvirus. O objetivo deste trabalho foi identificar espécies de potyvirus do complexo do mosaico infectando e causando sintomas de mosaico-comum em plantas daninhas em lavouras de milho e de sorgo.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Plantas daninhas poaceas (Figura 1), apresentando sintomas típicos de mosaico e de ocorrência frequente em lavouras de milho e de sorgo tiveram amostras foliares coletadas, dentre essas: capim marmelada (*Brachiaria plantaginea*), braquiária (*Brachiaria decumbens*), Braquiaraão (*Brachiaria brizantha*), ruziense (*Brachiaria ruzienses*), capim colônia (*Panicum maximum*), capim coloninho (*Panicum dichotomiflorum*), Digitalia spp, sorgo selvagem (*Sorghum verticilliflorum*) e teosinto (*Euchlaena mexicana*).

Reações de PCR e RT-PCR

O RNA das amostras foi extraído empregando-se o *RNeasy Plant Mini Kit* (Qiagen),

seguinte as instruções do fabricante.. As reações de RT-PCR foram realizadas para obtenção do cDNA e posterior utilização do DNA em reações de PCR com pares de *primers* específicos para a região conservada da proteína capsial de potyvirus em geral: PZEO F - GTATGGTGCATCGAAAATGGT e PZEO R - TGCTGCTGCTTTCATCTG SEIFERS et al. (2000). As amostras que produziram amplicons foram submetidas a reações de PCR com pares de *primers* específicos para a proteína capsial das seis espécies de potyvirus do complexo do mosaico, conforme descrito por SOUZA et al (2013).

Sequenciamento e identificação da espécie de potyvirus

Os amplicons obtidos foram cortados de gel de agarose e purificados utilizando-se o *QIAquick Gel Extraction Kit* (Qiagen). O sequenciamento do DNA foi realizado empregando-se *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (Life Technologies) em sequenciador automático. As seqüências obtidas foram editadas utilizando o software Sequencher v 4.1.4 e comparadas com seqüências depositadas no NCBI (*GenBank*), visando confirmação de identidade da espécie de potyvirus.

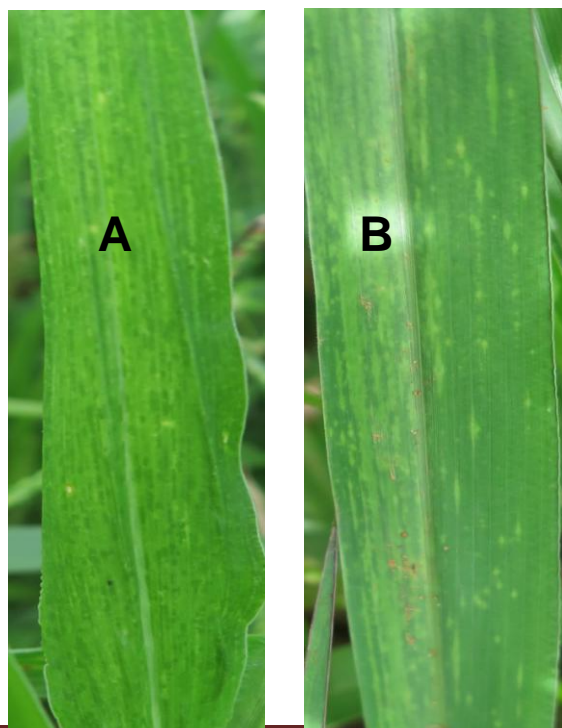


Figura 1. Folhas de capim marmelada (*Brachiaria plantaginea*) (A) e de Braquiarião (*Brachiaria brizantha*) (B) apresentando sintomas típicos de mosaico.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Empregando-se os *primers* específicos (PZEO) para a região conservada da proteína capsial de potyvirus em geral, foi possível obter um amplicon de 324 pb nas amostras de capim marmelada (*Brachiaria plantaginea*), braquiarião (*Brachiaria brizantha*), sorgo selvagem (*Sorghum verticilliflorum*) (Figura 2) e teosinto (*Euchlaena mexicana*) sintomáticas para mosaico.

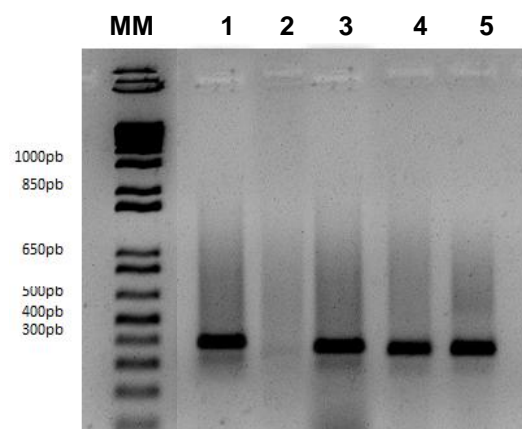


Figura 2. Amplicons de aproximadamente 324 pb obtidos das amostras de capim marmelada (1), braquiarião (3 e 5) e sorgo selvagem (4) com os *primers* (PZEO) específicos para detecção de potyvirus em geral. A amostra de capim Coloninho (2) não apresentou amplicon. Gel de agarose 1,5%. MM= marcador de peso molecular

Nenhuma das amostras apresentou amplicon com os *primers* específicos para os demais potyvirus do complexo do mosaico: *Sorghum mosaic virus* (SrMV), *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) *Johnsongrass mosaic virus* (JGMV), *Zea mosaic virus* (ZeMV), *Pennisetum mosaic virus* (PenMV). Dentre as amostras: braquiarião, sorgo selvagem e teosinto, apresentaram também amplicons de 1072 pb com o par de *primers* MDMV2 F - GTATTCCATCAGTCGGGAAGCTG e MDMV3 R - ACGAGGTAAAACCTCAC (RESENDE et al, 2004), que amplifica a seqüência do gene da

proteína capsial de SCMV (Figura 3). Esses amplicons foram sequenciados e a comparação desses através de *blastn*, realizada contra o banco público de seqüências, *GenBank* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) apresentou identidades variando de 98% a 100% em relação a seqüência de nucleotídeos de isolados de SCMV infectando milho e sorgo no Brasil, depositadas por Souza et al. (2005). Dessa forma, foi possível identificar amostras de plantas daninhas infectadas pelo SCMV estirpe brasileira, agente causal do mosaico-comum nas culturas do milho e do sorgo.

CONCLUSÃO

As plantas daninhas da família poaceae: Braquiarião (*Brachiaria brizantha*), sorgo selvagem (*Sorghum verticilliflorum*) e teosinto (*Euchlaena mexicana*) são hospedeiras do SCMV, agente causal do mosaico-comum em milho e sorgo no Brasil.

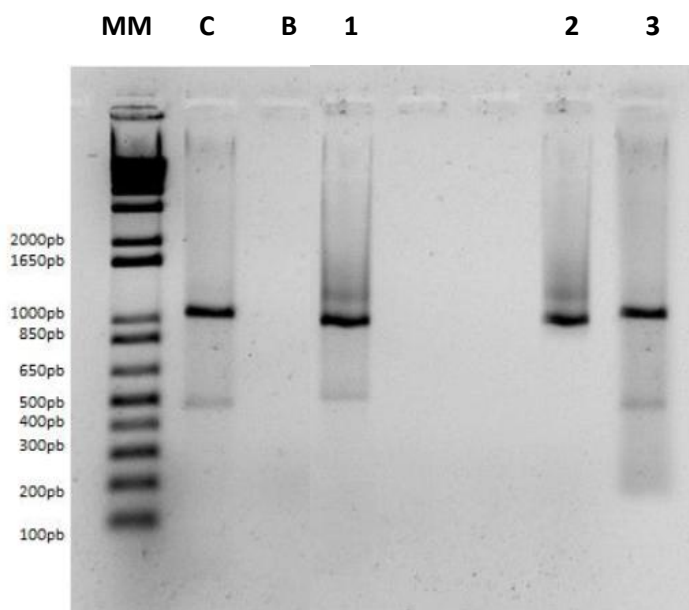


Figura 3. Amostras de sorgo selvagem (1), teosinto (2) e capim marmelada (3) apresentando amplicon de 1072 pb, resultante da amplificação com o par de *primers* (MDMV2/MDMV3) que amplifica a seqüência do gene da proteína capsial de SCMV. Gel de agarose 1,5%. MM= marcador molecular, C= controle e B=branco.

AGRADECIMENTOS

Fapemig Convênio 9761 CBB-RED-00005/14 e Embrapa Milho e Sorgo pelo suporte financeiro. A Célio Ramos das Neves pela participação no desenvolvimento das atividades de campo e laboratório.

REFERÊNCIAS

DENG CL, WANG WJ, WANG ZY, JIANG X, CAO Y, ZHOU T, WANG FR, LI HF, FAN ZF. The genomic sequence and biological properties of Pennisetum mosaic virus, a novel monocot-infecting potyvirus. Arch Virol 153: 921-927, 2008.

GONÇALVES MC, GALDEANO DM, MAIA IG, CHAGAS CM. Variabilidade genética de Sugarcane mosaic virus, do mosaico em milho no Brasil. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v. 346, p.362-369, 2011.

MELO PR. (2000) Estudo da variabilidade e do uso de métodos moleculares na detecção dos vírus do rayado fino e do mosaico comum do milho (*Zea mays* L.) Thesis, Universidade de Brasília.

RESENDE RO, ALMEIDA ACL, MELO PR (2004) Técnicas moleculares para detecção de vírus em milho e em insetos-vetores. In: Oliveira E, Oliveira CM (ed) Doenças em milho: mollicutes, vírus, vetores, mancha por Phaeosphaeria. Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, pp 206-226.

SHEIFERS DL, SALOMON R, MARIE-JEANNE V, ALLIOT B, SIGNORET P, HABER S, LOBODA A, ENS W, SHE YM, STANDING KG. Characterization of a novel potyvirus isolated from maize in Israel. Phytopathology 90: 505-513, 2000.

SHUKLA DD, WARD CW, BRUNT AA. The Potyviridae. Cambridge: CAB International, 1994. 516 p.

SOUZA, I. R. P.; LENARDON, S.; GIOLITTI, F. J.; OLIVEIRA, E.; CARNEIRO, N. P.; GOMES, E. A. **Identification of the potyvirus species in maize, sorghum, and sugarcane from Brazil.** 2005. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=scmv%20bra zil%20maize>>. Acesso em: 04 ago. 2016.

SOUZA IRP, GIOLITTI F, CARNEIRO NP, LENARDON SL, OLIVEIRA E, GOMES EA, NODA RW, DE SOUZA



FA. Sequence Diversity in the coat protein of SCMV infecting maize and sorghum in Brazil. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.11, n.2, p. 120-135, 2012.

SOUZA, I. R. P. de; BARROS, B. de A.; RAFAEL, H. A. Detecção molecular do SCMV infectando milho e sorgo no Brasil. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2013. 24 p. il. (Embrapa Milho e Sorgo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 66).



XXXI CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO

"Milho e Sorgo: inovações,
mercados e segurança alimentar"
